UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA

Dipartimento di Agronomia Animali Alimenti Risorse Naturali e Ambiente

Corso di laurea in Scienze e Tecnologie Alimentari

Soluzioni di imballaggio attivo con probiotici per carne e prodotti a base di carne

Docente di riferimento
Prof. Gabriella Pasini

Laureanda
Martina Brunazzo
Matricola n.
1201690

ANNO ACCADEMICO 2024-2025

INDICE

RIASSUNTO 3

ABSTRACT 4

1. INTRODUZIONE 5
2. IMBALLAGGI ATTIVI.....7
3. PROBIOTICI NEGLI IMBALLAGGI ATTIVI.....8
4. TECNICHE DI PRODUZIONE FILM E RIVESTIMENTI 9
5. INCAPSULAMENTO DEI PROBIOTICI 13
   5.1 VITALITÀ DEI PROBIOTICI NEGLI IMBALLAGGI ATTIVI.....15
6. EFFETTI SULLE CARATTERISTICHE FISICO-CHIMICHE DEI FILM 17
7. EFFETTI SULLA QUALITÀ DELLA CARNE E PRODOTTI A BASE DI CARNE 20
   7.1 CARATTERISTICHE CHIMICO-FISICHE 20
   7.2 CARATTERISTICHE SENSORIALI 24
   7.3 CARATTERISTICHE MICROBICHE 27
8. PROSPETTIVE FUTURE E CONCLUSIONI FINALI 30

BIBLIOGRAFIA 32

RIASSUNTO

Negli ultimi anni, l'industria alimentare ha mostrato un crescente interesse verso soluzioni di conservazione più sicure e sostenibili, in particolare nel settore della carne e dei prodotti a base di carne, dove l'uso di conservanti chimici come nitriti e nitrati è sempre più discusso a causa dei possibili effetti nocivi per la salute umana. In questo contesto, la presente tesi analizza l'utilizzo di imballaggi attivi arricchiti con probiotici come alternativa funzionale e naturale ai metodi di conservazione tradizionali.

Il lavoro si concentra in particolare sugli edible film and coatings (EFC), ovvero film e rivestimenti commestibili a base di biopolimeri naturali, capaci di veicolare microrganismi probiotici vivi con proprietà antimicrobiche e antiossidanti. Sono approfondite le principali tecniche di produzione, nonché i metodi di incapsulamento dei probiotici, fondamentali per garantire la loro vitalità durante lavorazione, stoccaggio e rilascio controllato.

Vengono valutati gli effetti dell'incorporazione dei probiotici sulle proprietà fisico-chimiche dei materiali EFC, come pure l'impatto diretto su carne e derivati in termini di qualità microbiologica, caratteristiche fisico-chimiche e sensoriali. I risultati mostrano che l'uso di film e rivestimenti probiotici può contribuire a contenere la crescita di microrganismi patogeni, prolungare la shelf-life e mantenere le caratteristiche qualitative del prodotto, riducendo la necessità di additivi chimici.

ABSTRACT

In recent years, the food industry has shown a growing interest in safer and more sustainable preservation solutions, particularly in the meat and meat products sector, where the use of chemical preservatives such as nitrites and nitrates is increasingly debated due to their possible harmful effects on human health. In this context, this thesis analyses the use of active packaging enriched with probiotics as a functional and natural alternative to traditional preservation methods.

The work focuses on edible films and coatings (EFCs), i.e. films and coatings based on natural biopolymers, capable of carrying live probiotic microorganisms with antimicrobial and antioxidant properties. The main production techniques are explored in depth, as well as methods for encapsulating probiotics, which are essential for ensuring their viability during processing, storage, and controlled release.

The effects of incorporating probiotics on the physical and chemical properties of EFC materials are evaluated, as well as the direct impact on meat and meat products in terms of microbiological quality, oxidative stability, and sensory characteristics. The results show that the use of probiotic films and coatings can help to contain the growth of pathogenic microorganisms, prolong shelf life and maintain the quality characteristics of the product, reducing the need for chemical additives.

1 INTRODUZIONE

Il deterioramento della carne e dei suoi derivati, dovuto principalmente all'ossidazione lipidica e alla contaminazione microbiologica durante le fasi di lavorazione, distribuzione e stoccaggio, rappresenta una delle cause principali di perdite economiche per l'industria alimentare (Alirezalu et al., 2020; Peighambardoust et al., 2022; Domínguez et al., 2018; Yaghoubi et al., 2020, 2021, 2023).

Tra i conservanti chimici più impiegati figurano i sali di nitrito e nitrato, utilizzati per inibire la proliferazione microbica, controllare l'ossidazione della mioglobina, aumentare la sicurezza del prodotto, prolungare la shelf-life e mantenere stabili colore e sapore (Olvera-Aguirre et al., 2023; Ruedt, Gibis e Weiss, 2023).

Nei prodotti a lunga stagionatura o essiccazione, come il prosciutto crudo, si impiegano nitrato di sodio e di potassio come fonte indiretta di nitrito, infatti, grazie all'attività delle nitrato-reduttasi batteriche, il nitrato viene gradualmente trasformato in nitrito (Zhong, Blekkenhorst et al., 2022). Quest'ultimo è direttamente responsabile dell'inibizione di patogeni come *Clostridium botulinum*, della prevenzione dell'irrancidimento e della stabilizzazione del colore rosso vivo della carne (Bedale et al., 2016).

Sebbene autorizzato, l'impiego di nitrati è soggetto a rigorose normative in molti Paesi, proprio per il rischio associato alla loro trasformazione in composti indesiderati e potenzialmente cancerogeni come le nitrosammine. Quindi, anche se questi conservanti offrono importanti vantaggi in termini di sicurezza microbiologica e prolungamento della shelf-life, le loro potenziali implicazioni per la salute e le crescenti richieste di prodotti "clean label" pongono sfide significative per l'industria della carne (Zhang et al.,2023). Parallelamente, l'utilizzo di imballaggi convenzionali per i prodotti alimentari, realizzati principalmente con materiali sintetici e non biodegradabili, comporta un impatto ambientale significativo: oltre a essere meno sostenibili, contribuiscono in modo rilevante (circa il 40%) al consumo totale di plastica destinata all'imballaggio (Kakadellis & Harris, 2020) e rappresentano una delle principali cause dell'accumulo di rifiuti non riciclabili (Moeini, Germann, Malinconico e Santagata, 2021; Santhosh, Nath e Sarkar, 2021).

Di recente, per superare queste problematiche legate sia alla salute che alla sostenibilità ambientale, sono stati sviluppati nuovi materiali e tecnologie di imballaggio, in particolare materiali di imballaggio attivi contenenti probiotici, con

l’obiettivo di migliorare la sicurezza alimentare e prolungare la durata di conservazione della carne e dei prodotti a base di carne (Alirezalu, Yaghoubi, Poorsharif et al., 2021; Alirezalu, Yaghoubi, Nemati, Farmani e Mousavi Khaneghah, 2021; Lee, Lee, Choi e Hur, 2015; Kapetanakou e Skandamis, 2016; Ghaani, Cozzolino, Castelli e Farris, 2016).

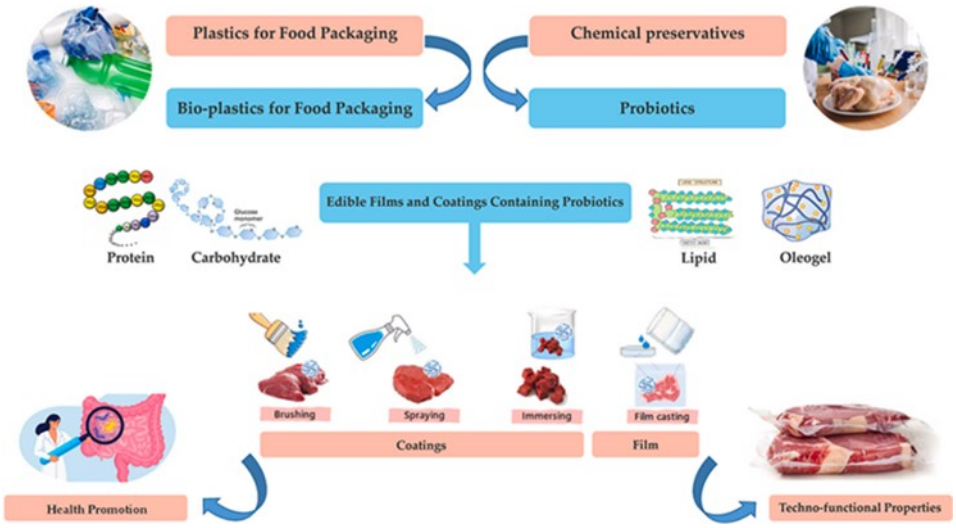

Figura 1. Evoluzione da materiali di imballaggio tradizionali a imballaggi attivi (Yaghoubi, M. et al, 2025)

2 IMBALLAGGI ATTIVI

I film e rivestimenti commestibili (EFC- edible films and coatings) rappresentano soluzioni innovative nel campo degli imballaggi attivi alimentari grazie ai loro scopi diversi e caratteristiche promettenti. Nello specifico:

- i rivestimenti commestibili sono sottili strati di sostanze applicati direttamente sulla superficie dei prodotti alimentari, formando una pellicola protettiva aderente al cibo
- i film commestibili, invece, sono sottili fogli o pellicole separate che vengono utilizzate per avvolgere o racchiudere il cibo, come una confezione.

Gli EFC sono strutture a base di proteine, polisaccaridi e/o lipidi che possono essere arricchite con microrganismi probiotici. L'incorporazione di probiotici in queste matrici commestibili consente di sviluppare sistemi di confezionamento attivi in grado di aumentare la stabilità, la sicurezza microbiologica e la shelf-life degli alimenti, riducendo al contempo il rischio di contaminazioni da microrganismi patogeni o alteranti (Sun, Leng, Zang e Zhao, 2022). Inoltre, questi materiali innovativi possono fungere da veicolo per ceppi probiotici dotati di proprietà tecno-funzionali e benefici per la salute, contribuendo potenzialmente al miglioramento del microbiota intestinale dei consumatori.

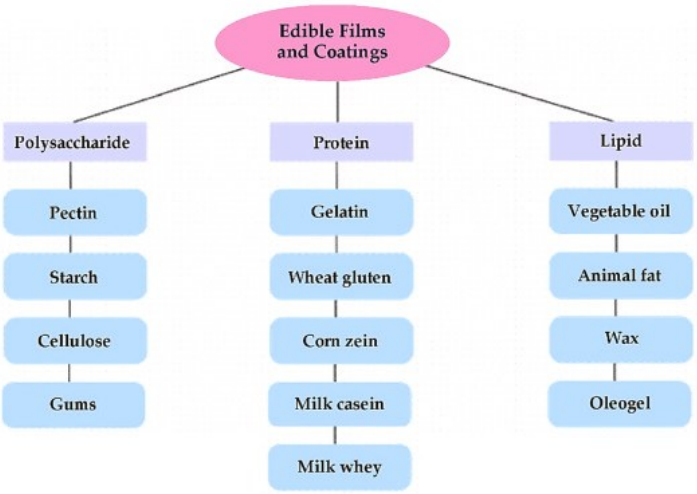

Figura 2. Diversi tipi di pellicole e materiali di rivestimento commestibili utilizzati nel confezionamento di carne e prodotti a base di carne (Yaghoubi, M. et al, 2025)

3 PROBIOTICI NEGLI IMBALLAGGI ATTIVI

Secondo l'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS), i probiotici sono "microrganismi vivi che, se ingeriti in quantità sufficienti (>10^6 CFU/g), apportano benefici alla salute dell'ospite" (Hill et al., 2014). I ceppi batterici più utilizzati come probiotici sono *Bifidobacterium* spp. e batteri lattici (LAB). I LAB comprendono generi come *Lacticaseibacillus, Weissella, Streptococcus, Leuconostoc, Lactococcus e Pediococcus*. Sono noti come probiotici anche alcuni ceppi di bacilli e alcuni ceppi di lieviti e funghi, come *Saccharomyces cerevisiae* e *Saccharomyces boulardii*, (Bultosa, 2016).

Nell'industria della carne i probiotici sono utilizzati per migliorare la qualità, la sicurezza microbiologica e la conservabilità dei prodotti, grazie alla loro capacità di inibire microrganismi patogeni e di deterioramento. Contribuiscono inoltre a migliorare le caratteristiche sensoriali, come la tenerezza e il sapore, permettendo al contempo una conservazione priva di additivi chimici. Alcuni ceppi probiotici, già disponibili in commercio, sono stati sviluppati specificamente per applicazioni in prodotti carnei: possono essere incorporati nella carne durante la lavorazione o aggiunti al materiale di confezionamento per fornire i benefici tecnico-funzionali desiderati contribuendo allo sviluppo di imballaggi attivi con funzioni antimicrobiche e conservanti.

Negli ultimi anni, l'incorporazione di probiotici in film e rivestimenti edibili ha suscitato un crescente interesse nella ricerca scientifica, diventando un ambito di studio in rapida espansione nel campo del packaging alimentare attivo.

Si prevede un'ampia ricerca nella purificazione dei ceppi probiotici per risultati ancora migliori nella lavorazione della carne. D'altro canto, con l'aumento della domanda e della consapevolezza dei consumatori per prodotti più sani, l'importanza dei probiotici diventerà probabilmente sempre più importante, offrendo soluzioni innovative per nuovi prodotti, tendenze salutistiche e diete moderne.

4 TECNICHE DI PRODUZIONE FILM E RIVESTIMENTI

Per quanto riguarda i film la tecnica più utilizzata è la colata (casting) e può essere sia a umido che a secco:

1. colata a umido (wet casting)

   Le fasi chiave sono:

   1. il biopolimero e il solvente vengono combinati
   2. legami chimici tra loro vengono rotti tramite trattamento termico per aiutare il biopolimero a dissolversi nel solvente (Velaga et al, 2018)
   3. la soluzione viene omogeneizzata e colata in una matrice appropriata in grado di produrre un film commestibile con la forma desiderata
   4. il solvente viene lasciato evaporare per essiccare il film

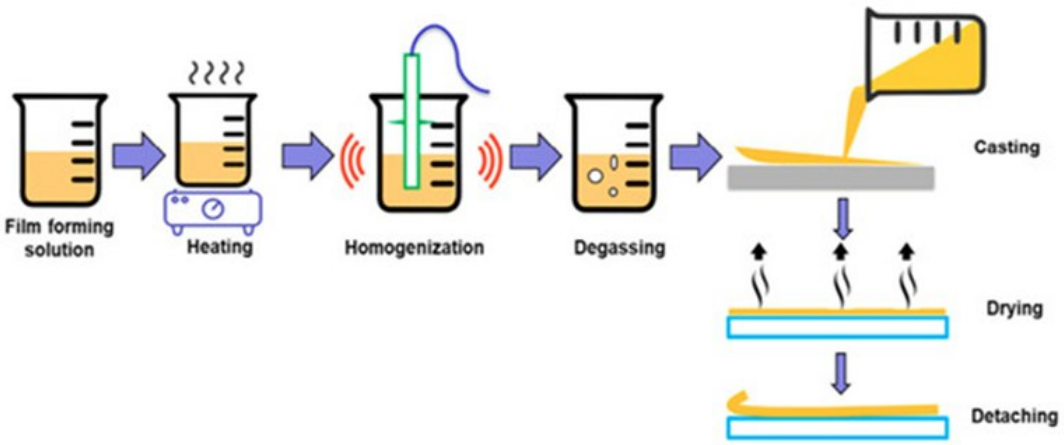

Figura 2. Tecniche di fusione a umido per la formazione di film commestibili. (Kumar et al, 2022)

Per evitare un'eccessiva essiccazione e danni strutturali allo strato commestibile, il processo di evaporazione avviene spesso all'interno di un forno, dove le temperature sono attentamente controllate per mantenerle al di sotto dei 60 °C. La pellicola può essere tolta dal supporto e utilizzata per lo scopo previsto quando il solvente è evaporato e si è asciugata (Kumar et al, 2022).

2. colata a secco (dry casting)

   In questo caso non c'è alcun componente liquido ma si utilizza un substrato in polvere per creare un film polimerico. Le fasi chiave sono:

   1. la polvere viene prima aggiunta alla tramoggia di alimentazione per iniziare il processo di formatura a secco
   2. la polvere del biopolimero viene compressa utilizzando una vite rotante che aiuta nella creazione di un'unità di materiale solido ed omogeneo
   3. viene incorporato un plastificante durante questa fase per accelerare il processo di compattazione
   4. il trattamento termico ha inizio a temperature comprese tra 75 e 100 °C per garantire la stabilizzazione e la coesione del materiale prima dell'estrusione finale (Britti et al, 2017; Chevalier et al, 2018)

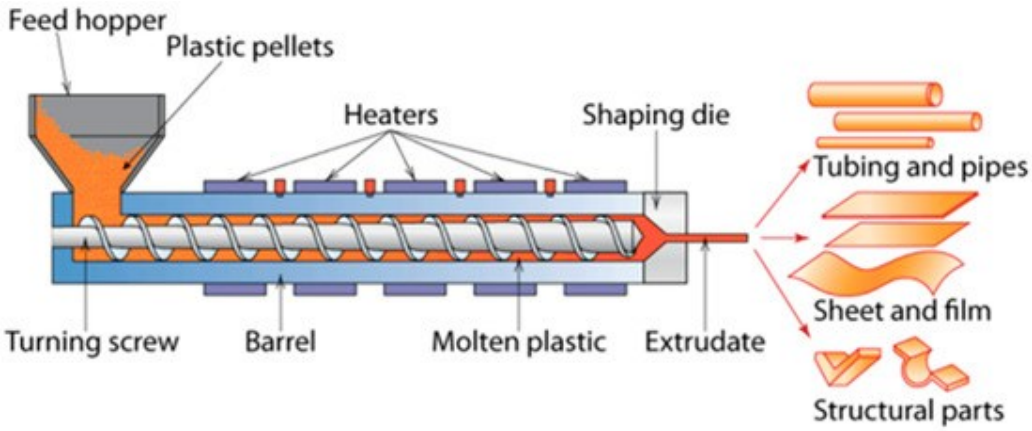

Figura 3. Il meccanismo delle tecniche di fusione a secco per la formazione di film commestibili (Sánchez-Ortega et al, 2014)

I plastificanti sono frequentemente impiegati nel metodo a secco per aumentare la flessibilità e la durata del film e per ridurne la naturale fragilità (Dinika et al, 2020). Le caratteristiche meccaniche vengono quindi migliorate, mentre l'aumento della permeabilità viene mantenuto al minimo (Vieira et al, 2011). Esistono diversi tipi di plastificanti utilizzati nella produzione di film commestibili:

1. a base di monosaccaridi, come glucosio e fruttosio;
2. a base di oligosaccaridi, come la maltodestrina;
3. a base di polioli, come glicerolo e sorbitolo;
4. a base di lipidi, come l'olio vegetale;

5. derivati dei monosaccaridi.

Il film ottenuto non risulta immediatamente idoneo all'uso ma deve essere sottoposto a ulteriori trattamenti, in particolare al condizionamento, che avviene a specifici livelli di temperatura e umidità. Un esempio è il riscaldamento del film a 60 °C per due ore in forno, in alternativa, un diverso metodo di condizionamento prevede l'esposizione del film a un'umidità relativa del 56,7% per un periodo di 7 giorni. (Jost et al, 2016).
Uno dei principali vantaggi di questa tecnica è il tempo di elaborazione significativamente ridotto rispetto al metodo di formazione a umido. Quest'ultimo infatti richiede un lungo processo di essiccazione per mantenere una buona omogeneità del materiale nello stampo e ottenere un film uniforme (Andreuccetti et al., 2012), tuttavia questa tecnica può creare un elevato livello di film commestibili a bassa temperatura e costi ridotti offrendo una valida alternativa per la commercializzazione (Krishna, Nindo e Min, 2012).

Per quanto riguarda i rivestimenti i metodi utilizzati sono la spazzolatura, l'immersione e la spruzzatura (Priyadarshi e Rhim, 2020).

1. tecnica a spruzzo

È la tecnica più adatta per ottenere rivestimenti a bassa viscosità e con buona uniformità. Questo metodo consente di nebulizzare la soluzione sulla superficie della carne variando la dimensione delle gocce, a temperatura ambiente e pressione media. La temperatura e il tempo di essiccazione hanno effetti significativi sull'applicazione del rivestimento durante la lavorazione. I principali vantaggi della tecnica a spruzzo sono la possibilità di utilizzare vari materiali di rivestimento , il controllo preciso dello spessore dello strato applicato e l'ottenimento di una copertura omogenea (Oduro, 2021 ; Silva et al., 2023).

2. tecnica a pennello

Prevede lo sviluppo del rivestimento in modo uniforme sulla superficie della carne o indirettamente sulla superficie interna del materiale di imballaggio utilizzando uno strumento sterile tra cui un pennello (Barbosa, Andrade, Vilarinho, Fernando e Silva, 2021).

3. tecnica a immersione

prevede l'immersione della carne e dei prodotti a base di carne nella soluzione di rivestimento commestibile. La soluzione di rivestimento residua viene quindi fatta sgocciolare e asciugata a temperatura ambiente sulla superficie dei prodotti a base di carne (Paulo, Baú, Ida e Shirai, 2021 ; Silva et al., 2023).

5 INCAPSULAMENTO DEI PROBIOTICI

La versatilità dei film deriva dall'elevata solubilità e dalla rapida dispersione dei vari polimeri a base di proteine e carboidrati, caratteristiche che facilitano l'incorporazione di principi attivi, tra cui batteri probiotici e componenti funzionali. Questi microrganismi possono essere incorporati direttamente nella matrice tramite miscelazione oppure, per una maggiore protezione durante la lavorazione e lo stoccaggio, attraverso tecniche di incapsulamento. I probiotici migliorano non solo la consistenza e la permeabilità delle pellicole, ma soprattutto la loro attività antimicrobica, grazie all'aumento delle interazioni interne e all'inibizione della crescita di microrganismi patogeni o deterioranti, nella maggior parte dei casi attraverso la produzione di agenti antibatterici come batteriocine e acidi organici (Misra et al., 2022).

Quando i probiotici vengono incorporati direttamente nella matrice del film, è fondamentale garantirne la sopravvivenza durante le fasi di lavorazione e conservazione. Questo risulta particolarmente complesso su scala industriale: l'essiccazione del film richiede la rimozione di grandi quantità d'acqua, operazione che deve essere condotta a basse temperature e in condizioni di vuoto per proteggere i microrganismi sensibili al calore. Tali condizioni, tuttavia, comportano tempi di essiccazione più lunghi e un conseguente aumento dei costi produttivi (Saez-Orviz et al., 2023).

L'incapsulamento è un processo, di natura meccanica o fisico-chimica, che prevede l'inclusione di ingredienti funzionali in micro e nanocapsule che aiutano a preservare e proteggere i probiotici vivi migliorandone la vitalità e fornendo una barriera tra l'ambiente circostante e le cellule vitali, proteggendoli dai fattori ambientali tra cui pH e ossigeno (Burgain, Gaiani, Linder e Scher, 2011). Questa strategia di protezione aumenta significativamente il loro periodo di sopravvivenza durante la lavorazione, lo stoccaggio e l'eventuale rilascio nel sito di destinazione (Amir et al., 2019). Un numero considerevole di batteri probiotici, tra cui *Bifidobacterium longum e Lactobacillus rhamnosus* , subisce gravi danni prima di entrare nel colon a causa dell'elevato contenuto di sali biliari nell'intestino e del basso pH dello stomaco (Ding e Shah, 2009), a questo proposito l'utilizzo di microcapsule risulta vantaggioso perché possono rimanere intatte nello stomaco con elevata resistenza alle condizioni acide e quando raggiungono l'intestino, rilasciano gradualmente i probiotici (Atia et al., 2017 ;

Bepeyeva et al., 2017 ; Yasmin, Saeed, Pasha e Zia, 2019). Tuttavia, la produzione di alimenti con un contenuto adeguato di cellule microbiche vitali e che ne garantiscano la sopravvivenza durante il periodo di conservazione è una delle sfide principali che l'industria alimentare deve affrontare. I polimeri per l'incapsulamento batterico richiedono un'attenta valutazione che comprenda biocompatibilità, resistenza meccanica, permeabilità, velocità di degradazione, stabilità, facilità di incapsulamento ed economicità. Questi parametri suggeriscono generalmente la selezione di diversi tipi di polimeri, consentendo un incapsulamento probiotico efficiente in numerose applicazioni.

Per l'incapsulamento è possibile utilizzare un'ampia varietà di biomateriali come proteine, polisaccaridi e lipidi, tra cui chitosano, alginato, maltodestrina, gomme, proteine del latte, amido, gelatina e derivati della cellulosa (Arslan-Tontul & Erbas, 2017; Kavitake, Kandasamy, Devi, & Shetty, 2018; Rajam & Anandharamakrishnan, 2015; Rodrigues et al., 2017).

Il metodo di incapsulamento dipende dal tipo di probiotico, dall'alimento, dalle qualità desiderate e dalle condizioni di lavorazione per preservare la vitalità dei probiotici durante l'incorporazione, la lavorazione e lo stoccaggio.

L'incapsulamento dei principi attivi nei materiali di supporto può essere ottenuto mediante diversi metodi, riportati nella seguente tabella:

Microencapsulation technique	Phases in Encapsulation Technique
Extrusion	Dispersion of active material in a molten carrier solution and forcing of the mixture into a dehydrating liquid
Centrifugal extrusions	Co-extrusion of active and carrier solution through nozzles
Emulsion	Polymers are used for coating oil-in-water emulsion droplets along with core material and homogenized well before chemically hardened to form a shell
Spray-drying Spray-chilling Spray-cooling	Atomize the infeed dispersion of the active and core mix and further dehydration of the atomized particles
Fluidized-bed coating	Fluidization of active particles and covering them using coating material
Liposomal entrapment	Micro fluidization, Ultra sonication & Reverse-phase evaporation of mixed active and carrier solution
Lyophilization	Freeze-drying of a mixed active and carrier solution
Coacervation	Polymers are used for coating oil-in-water emulsion droplets by coacervation that chemically hardened to form a shell
Centrifugal suspension separation	Passing an active-coat mixture over a rotating disc to achieve tiny encapsulated particles
Cocrystallization	Mixing of core in supersaturated sucrose solution
Inclusion complexation	Grinding or spray-drying or mixing complexes
Thermal gelation	Warm carrier solution (45 °C) is introduced into a temperature controlled dropping device, which drop the carrier solution in cold (10 °C) KCl solution under gentle magnetic stirrer agitation.

Tabella 1: Tecniche di microincapsulazione. (Kavitake et al,2018)

La scelta del processo più adatto dipende da diversi fattori, tra cui le caratteristiche fisiche e chimiche del nucleo e dei materiali di supporto/rivestimento, nonché la loro applicazione nella matrice alimentare. Tra tutte le tecniche, l'estrusione, l'emulsione e l'essiccazione a spruzzo sono utilizzate efficacemente per l'incapsulamento dei LAB.

Nonostante i numerosi vantaggi offerti dall'incapsulamento in termini di attività, distribuzione e stabilità delle cellule probiotiche, è necessario affrontare alcune preoccupazioni relative ai costi, alla selezione dei materiali della parete e al comportamento di rilascio per massimizzare l'efficacia del prodotto di consumo. Uno svantaggio significativo è rappresentato dalle cellule probiotiche vitali che potrebbero inattivarsi durante il processo di riscaldamento, soprattutto se sottoposte a trattamento termico elevato in condizioni di pressione atmosferica (Agriopoulou, Tarapoulouzi, Varzakas e Jafari, 2023). Inoltre, una selezione inappropriata dei materiali di parete e degli ingredienti del nucleo può influire negativamente sul comportamento di rilascio dei probiotici e portare a prestazioni inferiori (Sbehat, Mauriello e Altamimi, 2022).

5.1 VITALITA' DEI PROBIOTICI NEI MATERIALI EFC

La vitalità dei probiotici all'interno dei rivestimenti commestibili rappresenta un indicatore cruciale, in quanto la loro sopravvivenza può essere influenzata da diversi fattori, tra cui il processo di formazione del film, la temperatura di lavorazione e conservazione, la natura degli additivi utilizzati nelle soluzioni filmogene e le caratteristiche chimiche del film stesso. Tali parametri risultano fondamentali per garantire l'efficacia complessiva del rivestimento e la funzionalità del film probiotico. (Soukoulis, Behboudi, Macnaughtan, Parmenter, 2017; Zong et al., 2021). Esistono alcuni approcci per mantenere o migliorare la vitalità dei probiotici, tra cui:

1. selezione di ceppi con resistenza intrinseca al processo di incapsulamento, agli EFC e all'ambiente;
2. selezione di materiali di incapsulamento appropriati per proteggere le cellule microbiche da ossigeno, umidità e luce;
3. aggiunta di prebiotici e additivi protettivi alla matrice polimerica.

Secondo i risultati ottenuti da Zabihollahi et al. (2020), il contenuto di cellule vitali di *L. plantarum* è diminuito notevolmente durante il periodo di conservazione. Inoltre, la combinazione di nanofibre di cellulosa ha avuto un impatto negativo sulla vitalità dei probiotici, probabilmente a causa del loro effetto sulle proprietà del film, in particolare sull'adsorbimento dell'umidità. È noto, infatti, che il contenuto di umidità disponibile influisce significativamente sulla vitalità delle cellule probiotiche. In linea con ciò,

Soukoulis, Singh, Macnaughtan, Parmenter e Fisk (2016) hanno anche riportato una riduzione della vitalità dei probiotici a causa della perdita di attività dell'acqua nei film a base di amido-proteine, fenomeno che potrebbe essere associato a un aumento dello stress osmotico sulle cellule.

I prebiotici svolgono un ruolo fondamentale nel migliorare la vitalità dei probiotici all'interno dei sistemi di incapsulamento, contribuendo a:

1. proteggere le cellule microbiche durante il processo di incapsulamento;
2. favorire la sopravvivenza e la crescita dei microrganismi;
3. promuovere il rilascio prolungato delle cellule;
4. migliorare la resistenza dei probiotici alle condizioni acide ed enzimatiche dello stomaco;
5. mostrare effetti simbiotici che potenziano i benefici per la salute.

L'utilizzo di materiali di parete appropriati unito al co-incapsulamento di probiotici e prebiotici, fornisce notevoli risultati in termini di vitalità e stabilità dei probiotici. Tra i prebiotici più utilizzati vi sono il polidestrosio, l'inulina, i fruttooligosaccaridi e i galattooligosaccaridi. Alcuni studi hanno rivelato questi ultimi possono migliorare la capacità dei microrganismi vivi di sopravvivere durante il processo di incapsulamento, nonché migliorarne gli effetti biologici (Reque & Brandelli, 2021; Rashidinejad et al., 2022).

6 EFFETTI SULLE PROPRIETÀ FISICO-CHIMICHE DEI FILM

Studi recenti hanno riportato che l'incorporazione di probiotici incapsulati nei materiali di imballaggio può modificare le proprietà fisico-chimiche, spettrali e funzionali degli EFC.

Salimiraad et al. (2022) hanno studiato l'effetto dell'incorporazione di probiotici (*B. coagulans* GBI-30 e *L. casei*, entrambi a concentrazioni di 9 Log CFU/g) in un film composito a base di gelatina/nano chitosano/nano cellulosa.

Film	Umidità (%)	Solubilità (%)	Spessore (mm)
Pellicola pura	20,59 ± 0,83 [a]	31,86 ± 0,50 [a]	0,029 ± 0,0005 [b]
Film + *L. casei*	19,25 ± 0,57 [a]	31,03 ± 0,19 [a]	0,039 ± 0,003 [a]
Film + *B. coagulans*	19,69 ± 0,75 [a]	30,70 ± 0,51 [a]	0,040 ± 0,002 [a]
Film + *L. casei* + *B. coagulans*	19,09 ± 0,91 [a]	30,67 ± 1,18 [a]	0,040 ± 0,002 [a]

Tabella 2. Proprietà fisiche dei film compositi di nano chitosano/nano cellulosa/gelatina contenenti *Lactobacillus casei* e *Bacillus coagulans*. (Salmiraad et al, 2022)

I risultati hanno mostrato che l'aggiunta dei probiotici ha comportato una leggera riduzione della solubilità del film e del contenuto di umidità, ma queste variazioni non sono risultate statisticamente significative. Inoltre, i risultati relativi allo spessore indicano che i valori più bassi sono stati osservati nel film puro (0,029 mm) e, con l'aggiunta di batteri probiotici al film, lo spessore è aumentato. Tuttavia, lo spessore è risultato invariato tra i diversi trattamenti con film probiotici. Questi dati suggeriscono che l'incorporazione di probiotici non altera in modo rilevante le caratteristiche fisico-chimiche del film, mantenendone quindi la stabilità e la funzionalità strutturale. Tale risultato è positivo, in quanto indica che è possibile arricchire il film con probiotici senza comprometterne le proprietà meccaniche e di barriera, essenziali per l'efficacia degli EFC.

Ebrahimi et al. (2018) hanno studiato l'incorporazione di probiotici (*L. acidophilus, L. casei, L. rhamnosus* e *B. bifidum*) in film a base di carbossimetilcellulosa (CMC).

Treatment	Parameters			
	Thickness (μm)	Residual water content (g/100 g of film)	WVP ($g\ s^{-1}\ m^{-1}\ Pa^{-1} \times 10^{-7}$)	Opacity
Control	40.3 ± 1.0^{b}	33.33 ± 0.57^{a}	2.73 ± 0.27^{b}	2.46 ± 0.42^{b}
L. acidophilus	50.4 ± 5.0^{a}	34.33 ± 0.52^{a}	4.48 ± 0.47^{a}	5.46 ± 0.43^{a}
L. casei	50 ± 3.0^{a}	34.33 ± 0.57^{a}	4.51 ± 0.38^{a}	5.63 ± 0.41^{a}
L. rhamnosus	50 ± 4.0^{a}	34 ± 0.50^{a}	4.43 ± 0.45^{a}	5.41 ± 0.40^{a}
B.bifidum	50 ± 3.0^{a}	34.66 ± 0.52^{a}	4.40 ± 0.32^{a}	5.50 ± 0.43^{a}

Tabella 3. Proprietà fisico-chimiche e ottiche dei film di carbossimetilcellulosa. (Ebrahimi et al, 2018)

I risultati riportati in termini di contenuto di umidità dei film di carbossimetilcellulosa (CMC) incorporati con *L. acidophilus, L. casei, L. ramonsus, B. bifidum,* erano simili e non si è verificata alcuna diminuzione significativa. Nel fluido filmogeno, maggiori concentrazioni di solidi hanno portato a un aumento dello spessore del film incorporato con probiotici (Soukoulis et al., 2016).

Questi risultati suggeriscono che l'integrazione di probiotici nei materiali di imballaggio può essere effettuata senza compromettere significativamente le proprietà fisico-chimiche del film, contribuendo al contempo a migliorarne la funzionalità e la sostenibilità. Tuttavia, è fondamentale trovare un equilibrio ottimale tra proprietà meccaniche, vitalità dei probiotici e proprietà barriera, al fine di sviluppare soluzioni di confezionamento sicure, efficaci e funzionali.

Per garantire un incapsulamento e un rilascio efficaci dei probiotici, nonché la loro vitalità nei sistemi alimentari, devono essere compatibili con i materiali di parete incorporati negli EFC. Si è visto che la stabilità e il profilo di rilascio dei microrganismi vivi incapsulati possono essere efficacemente migliorati realizzando EFC con polimeri biodegradabili ed ecocompatibili come proteine del siero del latte, alginato e chitosabbia (Jacobsen, Caglayan, Caglayan, Bar-Shalom e Müllertz, 2020).

Esistono diversi fattori che influenzano la compatibilità delle matrici di parete con i probiotici, tra cui pH, umidità e proprietà intrinseche dei materiali, nonché possibili interazioni tra materiali di parete e cellule viventi (Arratia-Quijada, Nuño, Ruíz-Santoyo e Andrade-Espinoza, 2024). Sebbene lo scopo principale dell'incapsulamento dei probiotici sia quello di migliorarne la vitalità, è necessario comprendere e descrivere i meccanismi di rilascio delle cellule vitali, che possono essere influenzati da fattori

come la permeabilità e la solubilità dei materiali utilizzati. (Matouskova, Hoova, Rysavka e Marova, 2021; Arratia-Quijada et al., 2024). Inoltre, l'interazione dei probiotici con le matrici della parete, le dimensioni e la volatilità delle particelle, la viscosità del materiale di incapsulamento e il rapporto tra il materiale della parete e il nucleo, influenzano direttamente il meccanismo di rilascio dei microrganismi viventi (Rodrigues, Cedran, Bicas e Sato, 2020).

Per i probiotici incapsulati, la procedura di rilascio controllato rappresenta un vantaggio significativo, poiché consente di ridurre le perdite di ingredienti bioattivi durante le fasi di lavorazione e stoccaggio. I meccanismi principali attraverso i quali i microrganismi vengono rilasciati comprendono la dissoluzione, il rigonfiamento, la dispersione, la disintegrazione, l’erosine superficiale e di massa.

7 EFFETTI SULLA QUALITÀ DELLA CARNE E PRODOTTI A BASE DI CARNE

7.1 CARATTERISTICHE FISICO- CHIMICHE

Negli ultimi anni, numerosi studi hanno esplorato l'impiego di probiotici nei sistemi di confezionamento attivo o direttamente incorporati nei prodotti a base di carne, con l'obiettivo di migliorarne la qualità, prolungarne la durata di conservazione e ridurne il deterioramento microbiologico e ossidativo. Di seguito sono riportati alcuni esempi significativi che mettono in evidenza gli effetti positivi dell'applicazione dei probiotici su diverse tipologie di carne e derivati.

Pereira et al. (2019), hanno studiato un rivestimento commestibile a base di proteine del siero del latte contenente i probiotici *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb-12 e *Lacticaseibacillus casei*-01 applicato sul prosciutto affettato.

	Control			*B. animalis Bb-12®*			*L. casei-01*		
	Weight loss (g)	a_w	pH	Weight loss (g)	a_w	pH	Weight loss (g)	a_w	pH
0 days	12.468 ± 0.007^{a}	0.838 ± 0.001^{a}	6.12 ± 0.01^{a}	14.207 ± 0.005^{b}	0.937 ± 0.001^{b}	6.07 ± 0.01^{b}	14.211 ± 0.001^{b}	0.938 ± 0.001^{c}	6.05 ± 0.01^{c}
5 days	12.391 ± 0.009^{b}	0.825 ± 0.001^{b}	6.11 ± 0.01^{a}	14.204 ± 0.004^{b}	0.937 ± 0.001^{b}	6.08 ± 0.01^{b}	14.209 ± 0.001^{b}	0.938 ± 0.001^{c}	6.05 ± 0.01^{c}
15 days	11.511 ± 0.014^{c}	0.806 ± 0.001^{c}	6.03 ± 0.01^{b}	14.203 ± 0.002^{b}	0.935 ± 0.003^{b}	6.07 ± 0.01^{b}	14.209 ± 0.006^{b}	0.937 ± 0.001^{c}	6.04 ± 0.01^{c}
25 days	11.408 ± 0.004^{d}	0.785 ± 0.001^{d}	5.96 ± 0.01^{c}	14.202 ± 0.005^{b}	0.934 ± 0.001^{b}	6.05 ± 0.02^{b}	14.205 ± 0.007^{b}	0.935 ± 0.001^{c}	6.04 ± 0.01^{c}
35 days	11.103 ± 0.002^{e}	0.737 ± 0.002^{e}	5.90 ± 0.01^{d}	14.200 ± 0.002^{b}	0.932 ± 0.002^{b}	6.04 ± 0.01^{b}	14.204 ± 0.001^{b}	0.934 ± 0.001^{c}	6.03 ± 0.01^{c}
45 days	11.090 ± 0.006^{f}	0.714 ± 0.003^{f}	5.80 ± 0.01^{e}	14.200 ± 0.001^{b}	0.932 ± 0.001^{b}	6.04 ± 0.01^{b}	14.203 ± 0.000^{b}	0.933 ± 0.001^{c}	6.03 ± 0.01^{c}

Note: $^{a, b, c, d, f}$ Means ± standard error, within the same columns, labeled with the same letter, do not statistically differ from each other ($P > 0.05$).

Tabella 4. Evoluzione della perdita di peso (g), dell'attività dell'acqua (aw) e del pH del prosciutto non rivestito (prosciutto di controllo), del prosciutto rivestito con *B. animalis* Bb-12 e del prosciutto rivestito con *L. casei* -01 conservati in atmosfera modificata per 45 giorni a 4 ± 1 °C. (Pererira et al, 2019)

Durante la conservazione, il pH del prosciutto, sia nei campioni rivestiti sia in quelli di controllo, ha mostrato un'evoluzione simile nel tempo: nei campioni di controllo, il pH è passato da 6,12 (giorno 0) a 5,80 (giorno 45), nei campioni rivestiti con *B. animalis* Bb-12 e *L. casei*-01 i valori di pH sono variati rispettivamente da 6,07 a 6,04 e da 6,05 a 6,03 nell'arco dei 45 giorni. Questa stabilità del pH nei campioni trattati evidenzia l'efficacia del rivestimento nel contrastare l'accumulo di composti azotati prodotti dalle attività microbiche durante la conservazione.

L'attività dell'acqua ha mostrato un comportamento significativamente diverso tra i campioni di prosciutto affettato non rivestiti e quelli rivestiti: nei campioni di controllo l'aw è diminuita in modo marcato, passando da 0,838 a 0,714. Questa riduzione è correlata alla perdita di acqua dal prodotto, che si riflette anche nei valori crescenti di perdita di peso osservati nella tabella. Al contrario, nei campioni rivestiti con *B. animalis* Bb-12 e *L. casei*-01, l'aw è rimasta praticamente costante per tutta la durata dello studio, variando solo tra 0,932 e 0,938, senza differenze statisticamente significative. Questo dimostra l'efficacia del rivestimento nel limitare l'evaporazione dell'umidità, contribuendo alla stabilità del prodotto durante la conservazione.

Salimiraad et al. (2022) hanno studiato l'impatto delle pellicole di nano chitosano/nano cellulosa/gelatina contenenti i probiotici *Bacillus coagulans* GBI-30 e *Lactobacillus casei* sulla stabilità dei filetti di pollo.

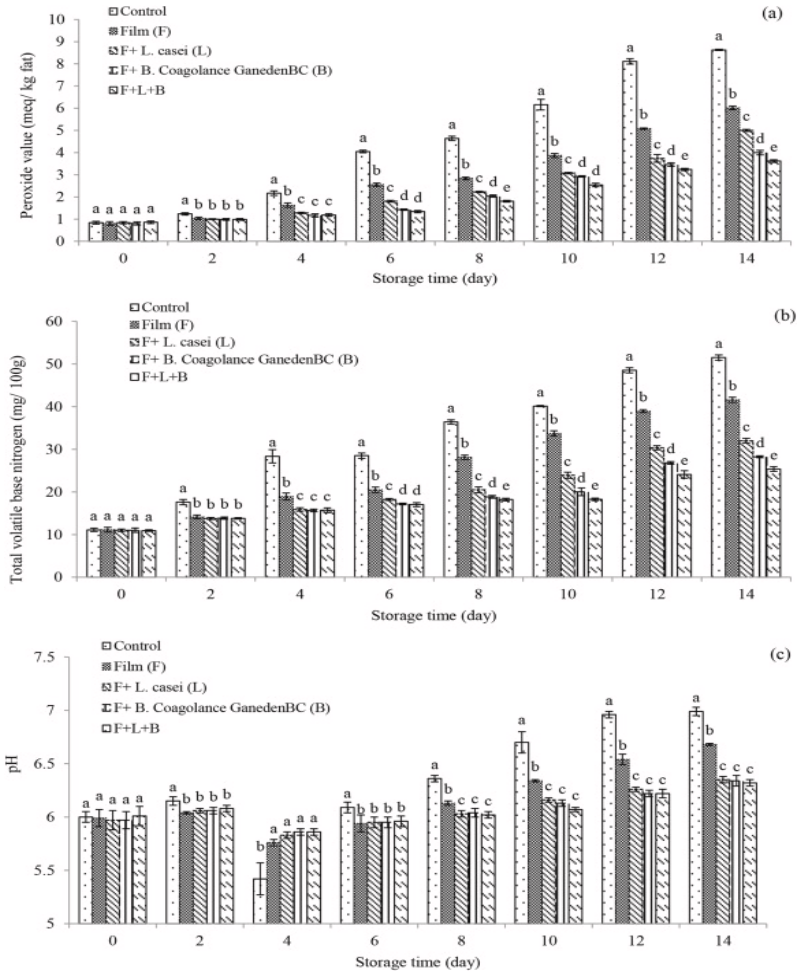

Figura 4. Variazioni del valore di perossido (a), azoto basico volatile totale (b) e pH (c) del filetto di pollo confezionato con pellicole composite di nano chitosano/nano cellulosa/gelatina contenenti *Lactobacillus casei* e *Bacillus coagulans* durante la conservazione in frigorifero. (Salimiraad et al, 2022)

L’analisi del PV ha mostrato un aumento progressivo in tutti i trattamenti con l’avanzare del tempo di conservazione, tuttavia, i film arricchiti con *Lactobacillus casei* e *Bacillus coagulans* hanno mostrato valori significativamente inferiori rispetto al controllo. In particolare, il trattamento con film + *L. casei* + *B. coagulans* ha registrato il PV più basso al 14° giorno (3,62 meq/kg di lipidi), ben al di sotto del limite massimo accettabile di 5 meq/kg (Yanar, 2007).

Il TVB-N è un indicatore del deterioramento proteico e della produzione di composti come ammoniaca, ammine e trimetilammina. I risultati hanno mostrato che tutti i trattamenti hanno subito un aumento del TVB-N nel tempo, ma il valore più elevato è stato riscontrato nel campione di controllo. I livelli accettabili di TVB-N per il consumo umano erano di 25 mg/g (Gimenez et al., 2002), di conseguenza, solo il trattamento con film + *L. casei* + *B. coagulans* ha raggiunto i livelli consentiti fino al termine del periodo di conservazione.

Il pH iniziale del filetto era pari a 6,00, in linea con quanto riportato da Javaherzadeh et al. (2019). Durante la conservazione il pH è inizialmente diminuito, probabilmente per effetto dell’attività dei batteri lattici che producono acido lattico. Successivamente, il pH è aumentato a causa dell’accumulo di TVB-N (ammoniaca, ammine) derivante dalla degradazione proteica. I trattamenti contenenti film + probiotici hanno mostrato una stabilità maggiore del pH, con variazioni non significative. Questo conferma l’efficacia del film nel limitare l’attività proteolitica microbica ed enzimatica, mantenendo il prodotto in condizioni più stabili dal punto di vista chimico.

Mozaffarzogh et al. (2020) hanno studiato i filetti di trota confezionati con pellicole a base di caseinato di sodio e carbossimetilcellulosa (CMC-SC), arricchite con *B. bifidum, L. rhamnosus, L. casei, L. reuteri* e *L. acidophilus*.

	Storage time (days)							
	0	2	4	6	8	10	12	14
TVC (log CFU/g)								
Control	3.33 ± 0.47^{a}	5.66 ± 0.09^{b}	7.47 ± 0.62^{a}	8.26 ± 0.56^{a}	8.89 ± 0.06^{a}	9.45 ± 0.26^{a}	9.80 ± 0.08^{a}	10.43 ± 0.64^{a}
Pure film	3.33 ± 0.47^{a}	5.19 ± 0.21^{c}	6.61 ± 0.01^{b}	7.48 ± 0.29^{b}	7.92 ± 0.37^{b}	8.39 ± 0.47^{b}	8.82 ± 0.03^{b}	9.34 ± 0.08^{b}
Film + *B. bifidum*	3.33 ± 0.47^{a}	6.82 ± 0.18^{a}	6.85 ± 0.07^{b}	7.18 ± 0.32^{bc}	7.71 ± 0.46^{bc}	7.93 ± 0.58^{bc}	8.15 ± 0.01^{bc}	8.55 ± 0.93^{c}
Film + *L. reuteri*	3.33 ± 0.47^{a}	6.78 ± 0.23^{a}	6.86 ± 0.42^{b}	6.97 ± 0.24^{c}	7.34 ± 0.68^{c}	7.69 ± 0.91^{c}	7.82 ± 0.23^{c}	8.21 ± 0.06^{d}
Film + *L. casei*	3.33 ± 0.47^{a}	6.81 ± 0.04^{a}	6.87 ± 0.03^{b}	6.99 ± 0.06^{c}	7.32 ± 0.05^{c}	7.69 ± 0.04^{c}	7.86 ± 0.07^{c}	8.22 ± 0.04^{d}
Film + *L. rhamnosus*	3.33 ± 0.47^{a}	6.79 ± 0.08^{a}	6.91 ± 0.04^{b}	6.94 ± 0.21^{c}	7.33 ± 0.04^{c}	7.66 ± 0.05^{c}	7.85 ± 0.24^{c}	8.23 ± 0.16^{d}
Film + *L. acidophilus*	3.33 ± 0.47^{a}	6.83 ± 0.35^{a}	6.85 ± 0.12^{b}	6.99 ± 0.04^{c}	7.39 ± 0.18^{c}	7.65 ± 0.01^{c}	7.86 ± 0.28^{c}	8.21 ± 0.03^{d}
PTC (log CFU/g)								
Control	2.49 ± 0.06^{a}	5.27 ± 0.05^{b}	6.38 ± 0.04^{a}	6.89 ± 0.76^{a}	7.37 ± 0.59^{a}	7.81 ± 0.05^{a}	8.27 ± 0.59^{a}	8.89 ± 0.18^{a}
Pure film	2.49 ± 0.06^{a}	5.01 ± 0.19^{b}	5.73 ± 0.33^{b}	6.18 ± 0.32^{b}	6.61 ± 0.18^{b}	7.06 ± 0.36^{b}	7.39 ± 0.27^{b}	7.77 ± 0.08^{b}
Film + *B. bifidum*	2.49 ± 0.06^{a}	5.55 ± 0.09^{a}	5.62 ± 0.05^{b}	5.71 ± 0.65^{c}	5.99 ± 0.07^{c}	6.29 ± 0.15^{c}	6.61 ± 0.14^{c}	6.98 ± 0.26^{c}
Film + *L. reuteri*	2.49 ± 0.06^{a}	5.59 ± 0.13^{a}	5.63 ± 0.45^{b}	5.72 ± 0.05^{c}	5.79 ± 0.43^{c}	6.02 ± 0.03^{d}	6.32 ± 0.08^{d}	6.71 ± 0.57^{d}
Film + *L. casei*	2.49 ± 0.06^{a}	5.59 ± 0.08^{a}	5.66 ± 0.32^{b}	5.72 ± 0.09^{c}	5.84 ± 0.46^{c}	6.03 ± 0.11^{d}	6.32 ± 0.01^{d}	6.75 ± 0.34^{d}
Film + *L. rhamnosus*	2.49 ± 0.06^{a}	5.55 ± 0.07^{a}	5.61 ± 0.07^{b}	5.71 ± 0.14^{c}	5.83 ± 0.08^{c}	6.01 ± 0.02^{d}	6.29 ± 0.35^{d}	6.71 ± 0.17^{d}
Film + *L. acidophilus*	2.49 ± 0.06^{a}	5.53 ± 0.06^{a}	5.65 ± 0.01^{b}	5.71 ± 0.16^{c}	5.83 ± 0.42^{c}	6.06 ± 0.04^{d}	6.31 ± 0.07^{d}	6.72 ± 0.05^{d}

Tabella 5. Variazioni nella conta totale di batteri vitali (TVC) e nella conta dei batteri psicrotrofi (PTC) dei filetti di trota confezionati in pellicole a base di carbossimetilcellulosa-caseinato di sodio. (Mozaffarzogh et al. 2020)

Per quanto riguarda la conta totale dei batteri vitali (TVC) e quella dei batteri psicotrofi (PTC), i valori iniziali registrati risultano piuttosto bassi, rispettivamente 3,33 log CFU/g per la TVC e 2,49 log CFU/g per la PTC, a conferma della buona qualità microbiologica iniziale del prodotto. Durante la conservazione refrigerata, la conta totale dei batteri vitali ha mostrato un andamento crescente in tutti i campioni, tuttavia, è interessante notare come i filetti confezionati con pellicole probiotiche abbiano evidenziato un comportamento microbiologico diverso rispetto al gruppo di controllo. In particolare, nel controllo, la TVC ha raggiunto il limite accettabile di 7 log CFU/g già al quarto giorno, indicando un rapido deterioramento microbiologico. Nei filetti confezionati con pellicola CMC-SC, invece, questo limite è stato raggiunto al sesto giorno, suggerendo un moderato prolungamento della conservabilità.

Va sottolineato che, nei filetti trattati con pellicole probiotiche, si è osservato un aumento iniziale sia della TVC che della PTC già nei primi giorni di conservazione. Questo fenomeno non va interpretato come un peggioramento della qualità, ma piuttosto come la conseguenza del trasferimento di batteri probiotici dai rivestimenti ai filetti, in altre parole, l'aumento iniziale non riflette una proliferazione di batteri deterioranti, bensì la presenza di microrganismi benefici introdotti intenzionalmente.

Con l'avanzare della conservazione, i filetti confezionati con pellicole probiotiche hanno mostrato una crescita più contenuta dei batteri deterioranti rispetto al controllo. Questo suggerisce che l'azione antimicrobica dei probiotici, dovuta alla produzione di batteriocine, acido lattico e alla competizione per i nutrienti, ha contribuito a rallentare lo sviluppo dei batteri alteranti. Anche la crescita dei batteri psicrotrofi, noti per essere tra i principali responsabili del deterioramento a basse temperature, è stata in parte contenuta nei campioni trattati, contribuendo così a preservare più a lungo la qualità microbiologica del prodotto.

7.2 CARATTERISTICHE SENSORIALI

Le caratteristiche organolettiche, come sapore, odore, consistenza e colore, rappresentano parametri fondamentali nella valutazione della carne e dei prodotti a base di carne, poiché influenzano in modo significativo l'accettazione da parte dei consumatori (Ayaseh et al., 2022). Affinché un prodotto abbia successo sul mercato, è essenziale che soddisfi le aspettative sensoriali del consumatore, pertanto, la valutazione organolettica costituisce uno strumento cruciale nella fase di sviluppo e validazione di nuovi prodotti (Sánchez-González et al. 2011).

Pavli et al. (2017) hanno analizzato l'impiego di pellicole commestibili a base di alginato di sodio per la veicolazione dei batteri probiotici *L. plantarum* e *L. pentosus* su fette di prosciutto cotto affettato. I campioni sono stati conservati a 4, 8 e 12 °C per periodi variabili fino a 66 giorni. Alcuni lotti sono stati sottoposti anche a pretrattamento ad alta pressione (HPP), con l'obiettivo di valutarne l'influenza sulla stabilità del prodotto.

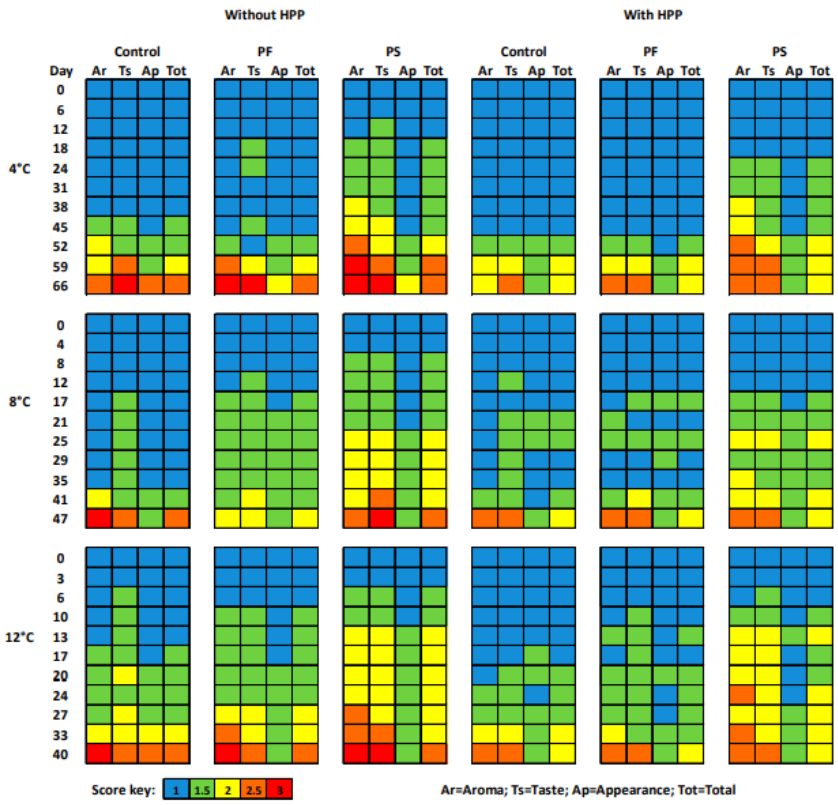

Figura 5. Punteggi sensoriali per fette di prosciutto trattate o meno con HPP, durante la conservazione a 4, 8 e 12 °C. (Pavli et al,2017)

La Figura 5 è mostra l'evoluzione dei punteggi sensoriali nel tempo per i campioni confezionati con film contenente probiotici (PS), film senza probiotici (PF) e il controllo (senza film), in presenza o assenza del trattamento HPP. In assenza di HPP, i campioni PS hanno riportato punteggi totali più elevati rispetto ai PF e ai controlli, a tutte le temperature testate, indicando un impatto negativo sull'aroma e sul gusto dovuto all'acidificazione causata dai ceppi probiotici. Tuttavia, l'applicazione di HPP ha mitigato questo effetto, migliorando i punteggi sensoriali dei campioni PS.

I campioni trattati con HPP, in generale, hanno mantenuto punteggi sensoriali inferiori alla soglia critica di 2 per un tempo più lungo, prolungando quindi la shelf-life sensoriale. Per quanto riguarda l'aspetto, le differenze tra PS, PF e controllo sono risultate minime, ma in alcuni casi l'HPP ha favorito una percezione visiva migliore.

Questi risultati evidenziano come l'impiego di film probiotici, pur introducendo modifiche sensoriali, possa essere compatibile con una buona qualità percepita se combinato con HPP, che ne attenua gli effetti indesiderati e ne estende la shelf-life sensoriale.

Riprendendo lo studio svolto da Salimiraad et al. (2022) vediamo ora le caratteristiche sensoriali.

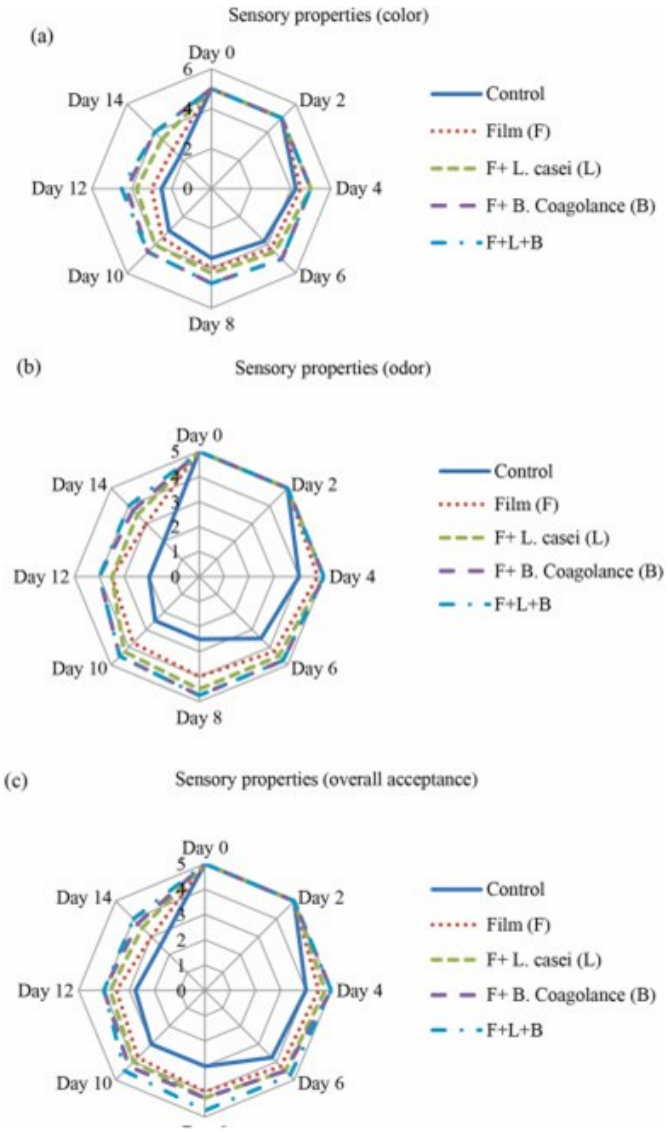

Figura 6. Variazioni delle proprietà sensoriali [colore (a), odore (b) e accettabilità complessiva (c)] di filetti di pollo. (Salimiraad et al. 2022)

Durante la conservazione, i punteggi sensoriali sono diminuiti significativamente in tutti i trattamenti seguendo un andamento coerente con i processi di ossidazione dei lipidi e decadimento microbiologico. Tali fenomeni influenzano negativamente le caratteristiche organolettiche del prodotto, compromettendone la qualità e l'accettabilità. Al termine del periodo di conservazione (14 giorni), i punteggi sensoriali più elevati sono stati riscontrati nel trattamento con pellicola + *L. casei* + *B. coagulans*, seguito dal trattamento con pellicola + *B. coagulans*. Al contrario, il campione di controllo, privo di trattamento, ha mostrato un rapido deterioramento e non è stato ritenuto idoneo al consumo già dopo 6 giorni. Il calo delle proprietà sensoriali nel

controllo è attribuibile all'ossidazione dei grassi, che comporta deterioramento, perdita di caratteristiche sensoriali, riduzione del contenuto nutrizionale e formazione di composti ossidativi potenzialmente nocivi.

7.3 CARATTERISTICHE MICROBICHE

I probiotici producono acidi organici e sostanze antimicrobiche che aiutano a prevenire la crescita e l'adesione di batteri patogeni e contaminanti, arrivando in alcuni casi anche a inattivarli completamente. Ebrahimi et al. (2018) hanno sottolineato come l'attività antimicrobica dei probiotici sia legata ai loro metaboliti, tra cui batteriocine, perossidi di idrogeno ed etanolo. In particolare, la produzione di batteriocine, soprattutto da parte di enterococchi e ceppi di *Lacticaseibacillus,* sembra essere il principale meccanismo alla base di questi effetti protettivi (Dobson, Cotter, Ross e Hill, 2012).

Degli Esposti et al. (2018) hanno studiato l'effetto anti-listeria delle pellicole contenenti *Enterococcus* con carne di pollo precotta contaminata artificialmente e conservata in frigorifero. Le pellicole contenenti il batterio *Enterococcus* sono state confrontate con quelle contenenti nisina ed enterocina, per valutarne l'efficacia nel contrastare la crescita di *Listeria monocytogenes*.

A entrambe le temperature, le pellicole non trattate non hanno mostrato alcuna efficacia nel limitare la crescita di *L. monocytogenes*. In particolare, alla temperatura di 4 °C (Figura 7a), hanno evidenziato un incremento della carica microbica fino a oltre 8 log UFC/g al decimo giorno, raggiungendo circa 9 log UFC/g al 14° giorno. Al contrario, i campioni avvolti con pellicole contenenti nisina o enterocina hanno mostrato una riduzione significativa della crescita batterica, mantenendo una differenza di circa 2 log UFC/g (nisina) e 2,5 log UFC/g (enterocina) rispetto al controllo, valore che è rimasto stabile fino alla fine dell'esperimento. Nei campioni trattati con pellicole contenenti *Enterococcus*, l'andamento iniziale (fino al 7° giorno) è stato simile a quello osservato per nisina ed enterocina. Tuttavia, nella fase finale della conservazione, è stata registrata un'attività antibatterica ancora più marcata, con una riduzione della carica batterica di circa 4 log UFC/g rispetto alle pellicole non trattate, dal 10° al 14° giorno. Questo indica che l'efficacia del rivestimento contenente

Enterococcus è stata superiore anche rispetto a quella dei film con batteriocine purificate nella fase finale dell'esperimento.

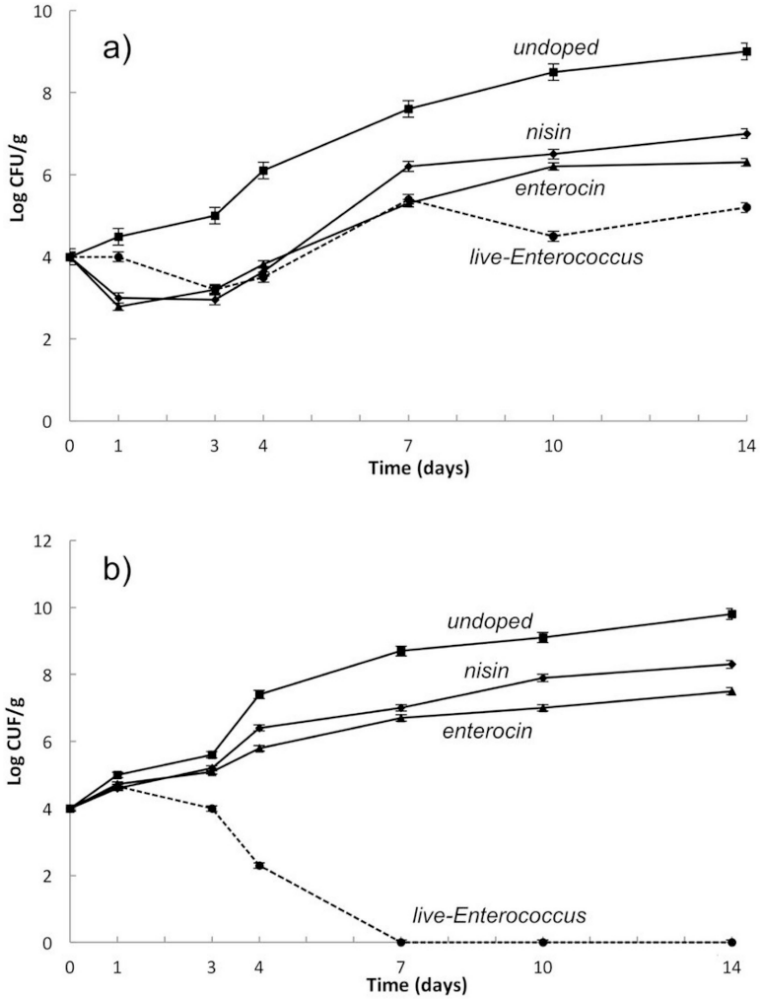

Figura 7. Conteggi batterici di *L. monocytogenes* (log CFU/g) osservati nei campioni di filetti di pollo confezionati in film arricchito con *Enterococcus* [●], con enterocina [▲], con nisina [♦] e film di controllo [■], conservati a 4 °C (a) e a 22 °C (b). (Degli esposti et al, 2018)

Gialamas et al, (2010) hanno valutato l'incorporazione di cellule vive di *Lactobacillus sakei* in pellicole commestibili a base di caseinato di sodio (SC).

L'efficacia antimicrobica delle pellicole è stata valutata sia su terreni di coltura a base di agar, sia su carne bovina fresca. In entrambi i casi, i campioni sono stati inoculati con *Listeria monocytogenes* al fine di verificare la capacità inibitoria del ceppo *Lactobacillus sakei* immobilizzato nella matrice filmogena.

Nei campioni di controllo, privi di pellicola, la concentrazione iniziale di batteri lattici (LAB), naturalmente presenti nella carne, era pari a 3,1 log UFC/cm² e ha raggiunto

valori compresi tra 5,8 e 6,0 log UFC/cm² dopo 6–9 giorni di conservazione. Nei campioni a contatto con le pellicole contenenti L. sakei, il livello iniziale di LAB risultava già elevato (circa 6 log UFC/cm²) per effetto dell'inoculo presente nella matrice filmogena, e ha raggiunto i 7 log UFC/cm² durante la conservazione. Questa differenza nei livelli di LAB tra i campioni trattati e quelli di controllo ha determinato una marcata inibizione della crescita di L. monocytogenes. Al termine del periodo di conservazione, la presenza del patogeno nei campioni trattati con pellicole è risultata ridotta di circa 2 cicli logaritmici rispetto ai campioni non trattati.

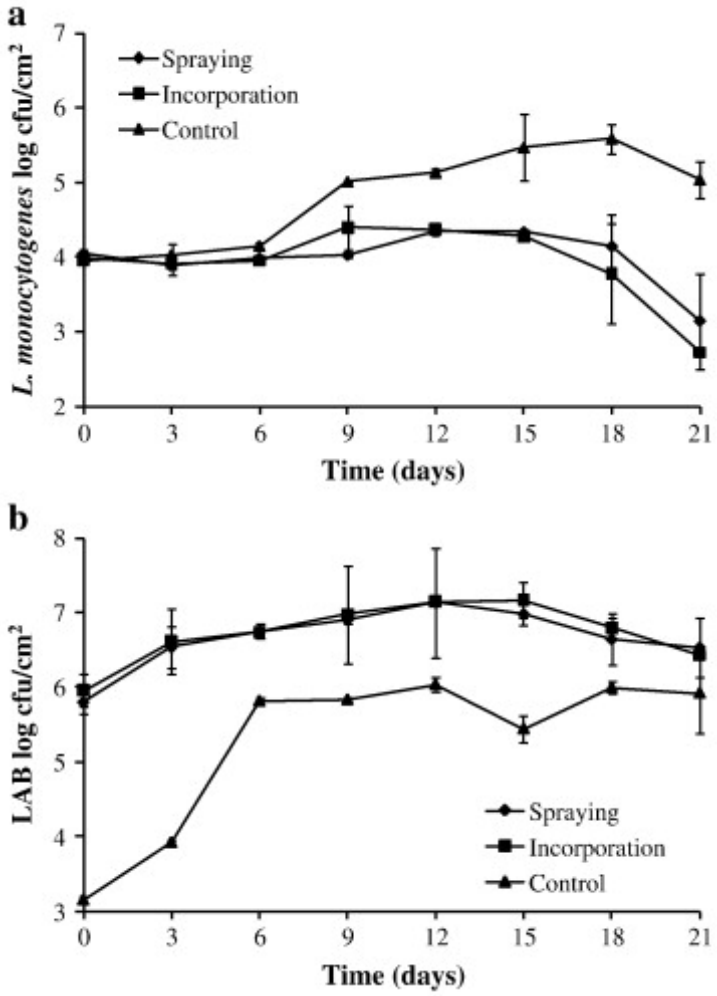

Figura 8. Crescita di *Listeria monocytogenes* (a) e batteri lattici (b) su carne di manzo fresca a 4 °C. (Gialamas et al, 2010)

8 PROSPETTIVE FUTURE E CONCLUSIONI FINALI

Negli ultimi decenni l'interesse verso film e rivestimenti contenenti batteri probiotici è aumentato, grazie alla crescente domanda dei consumatori di imballaggi ecocompatibili e di bioconservanti, in quanto offrono potenziali vantaggi in termini di sicurezza, stabilità, durata di conservazione della carne e dei prodotti a base di carne, nonché benefici per la salute umana.

Dal lavoro svolto emerge che i film e rivestimenti commestibili ottenuti da matrici a base di biopolimeri naturali, non solo costituiscono una valida alternativa ai materiali plastici tradizionali, ma possono fungere da veicolo per ceppi probiotici vivi. Questi microrganismi, opportunamente selezionati e incapsulati per migliorarne la vitalità, hanno dimostrato la capacità di svolgere un duplice ruolo: da un lato, esercitare un'azione antimicrobica e antiossidante diretta sul prodotto, contribuendo a prolungare la shelf-life; dall'altro, trasferire al consumatore effetti funzionali potenzialmente benefici per la salute. L'incapsulamento dei batteri probiotici in biomateriali si è rivelato una strategia promettente per salvaguardarne la vitalità e favorire una somministrazione mirata, con potenziali applicazioni in diversi ambiti biomedici.

Gli studi analizzati hanno evidenziato diversi risultati significativi. Sul piano chimico-fisico, l'incorporazione dei probiotici nei film non altera in modo rilevante le proprietà meccaniche e barriera dei materiali, preservandone stabilità e funzionalità. Dal punto di vista sensoriale, l'impiego di rivestimenti probiotici può comportare modifiche percepibili su odore, sapore e consistenza; tuttavia, strategie combinate (ad esempio con trattamenti HPP) hanno dimostrato la possibilità di mantenere o addirittura migliorare l'accettabilità del prodotto. Infine, sul piano microbiologico, la presenza di probiotici si è rivelata determinante nel limitare la crescita di microrganismi alteranti e patogeni, con effetti positivi sulla sicurezza alimentare e sulla conservabilità.

Nonostante i risultati incoraggianti, permangono alcune sfide da affrontare. Innanzitutto, la vitalità dei probiotici durante le fasi di lavorazione, stoccaggio e distribuzione rappresenta un aspetto critico, che richiede lo sviluppo di tecniche di incapsulamento sempre più efficaci e a basso costo.

Dal punto di vista delle prospettive future, numerosi ambiti meritano approfondimento. La ricerca potrebbe concentrarsi sull'individuazione di ceppi probiotici con caratteristiche specifiche per l'applicazione in prodotti carnei, valutandone stabilità,

resistenza ai processi tecnologici e capacità di aderire e interagire con la matrice alimentare. Parallelamente, sarà necessario ottimizzare le tecniche di produzione di film e rivestimenti, migliorando la scalabilità industriale e riducendo i costi di produzione. Altri fronti di sviluppo riguardano l'integrazione dei probiotici con composti bioattivi naturali (estratti vegetali, enzimi, prebiotici), per ottenere imballaggi multifunzionali in grado di agire in modo sinergico sulla qualità del prodotto e sulla salute del consumatore.

In conclusione, l'adozione di imballaggi attivi a base di probiotici per carne e prodotti derivati non rappresenta soltanto una risposta alle esigenze tecnologiche e di conservazione, ma anche un'opportunità per innovare profondamente il settore alimentare in direzione della sostenibilità e della nutrizione funzionale. La transizione verso soluzioni "green" e "clean label" appare ormai inevitabile, e le evidenze raccolte suggeriscono che i film e rivestimenti arricchiti con probiotici possano costituire uno degli strumenti più promettenti in questo percorso.

In prospettiva, gli imballaggi attivi non devono essere considerati solo come un'alternativa agli additivi chimici, ma come un vero e proprio ponte tra packaging, sicurezza alimentare e salute pubblica, in grado di rispondere in maniera innovativa alle sfide globali di un settore in continua evoluzione.

BIBLIOGRAFIA

- Agriopoulou, S., Tarapoulouzi, M., Varzakas, T., & Jafari, S. M. (2023). Application of encapsulation strategies for probiotics: from individual loading to co-encapsulation. Microorganisms, 11(12), 2896.

- Alirezalu, K., Moazami-Goodarzi, A. H., Roufegarinejad, L., Yaghoubi, M., & Lorenzo, J. M. (2022). Combined effects of calcium-alginate coating and Artemisia fragrance essential oil on chicken breast meat quality. Food Science & Nutrition, 10(8), 2505-2515.

- Alirezalu, K., Pateiro, M., Yaghoubi, M., Alirezalu, A., Peighambardoust, S. H., & Lorenzo, J. M. (2020). Phytochemical constituents, advanced extraction technologies and techno-functional properties of selected Mediterranean plants for use in meat products. A comprehensive review. Trends in Food Science & Technology, 100, 292-306.

- Alirezalu, K., Yaghoubi, M., Nemati, Z., Farmani, B., & Mousavi Khaneghah, A. (2021). Efficacy of stinging nettle extract in combination with ε-polylysine on the quality, safety, and shelf life of rainbow trout fillets. Food Science & Nutrition, 9(3), 1542-1550.

- Alirezalu, K., Yaghoubi, M., Poorsharif, L., Aminnia, S., Kahve, H. I., Pateiro, M., ... & Munekata, P. E. (2021). Antimicrobial polyamide-alginate casing incorporated with nisin and ε-polylysine nanoparticles combined with plant extract for inactivation of selected bacteria in nitrite-free frankfurter-type sausage. Foods, 10(5), 1003.

- Amir, I., Zuberi, A., Kamran, M., & Imran, M. (2019). Evaluation of commercial application of dietary encapsulated probiotic (Geotrichum candidum QAUGC01): Effect on growth and immunological indices of rohu (Labeo rohita, Hamilton 1822) in semi-intensive culture system. Fish & Shellfish Immunology, 95, 464-472.

- Arratia-Quijada, J., Nuno, K., Ruíz-Santoyo, V., & Andrade-Espinoza, B. A. (2024). Nano-encapsulation of probiotics: Need and critical considerations to design new non-dairy probiotic products. Journal of Functional Foods, 116, 106192.

- Arslan-Tontul, S., & Erbas, M. (2017). Single and double layered microencapsulation of probiotics by spray drying and spray chilling. Lwt-food science and technology, 81, 160-169.

- Atia, A., Gomma, A. I., Fliss, I., Beyssac, E., Garrait, G., & Subirade, M. (2017). Molecular and biopharmaceutical investigation of alginate–inulin synbiotic coencapsulation of probiotic to target the colon. Journal of Microencapsulation, 34(2), 171-184.

- Ayaseh, A., Alirezalu, K., Yaghoubi, M., Razmjouei, Z., Jafarzadeh, S., Marszałek, K., & Khaneghah, A. M. (2022). Production of nitrite-free frankfurter-type sausages by combining ε-polylysine with beetroot extracts: An assessment of microbial, physicochemical, and sensory properties. Food Bioscience, 49, 101936.

- Barbosa, C. H., Andrade, M. A., Vilarinho, F., Fernando, A. L., & Silva, A. S. (2021). Active edible packaging. Encyclopedia, 1(2), 360-370.

- Bedale, W., Sindelar, J. J., & Milkowski, A. L. (2016). Dietary nitrate and nitrite: Benefits, risks, and evolving perceptions. Meat Science, 120, 85–92.

- Bepeyeva, A., de Barros, J. M., Albadran, H., Kakimov, A. K., Kakimova, Z. K., Charalampopoulos, D., & Khutoryanskiy, V. V. (2017). Encapsulation of Lactobacillus casei into calcium pectinate-chitosan beads for enteric delivery. Journal of food science, 82(12), 2954-2959.

- Britti Bacalhau, J., Mumic Cunha, T., & Afonso, C. R. M. (2017, December). Effect of Ni content on the Hardenability of a Bainitic Steel for Processing of Plastics. In Procceedings of the 24th ABCM International Congress of Mechanicl Engineering. ABCM.

- Bultosa, G. (2016). Teff: overview. Encyclopedia of food grains, 1, 209-220.

- Chevalier, E., Chaabani, A., Assezat, G., Prochazka, F., & Oulahal, N. (2018). Casein/wax blend extrusion for production of edible films as carriers of potassium sorbate—A comparative study of waxes and potassium sorbate effect. Food Packaging and Shelf Life, 16, 41-50.

- Degli Esposti, M., Toselli, M., Sabia, C., Messi, P., de Niederhäusern, S., Bondi, M., & Iseppi, R. (2018). Effectiveness of polymeric coated films containing bacteriocin-producer living bacteria for Listeria monocytogenes control under simulated cold chain break. Food Microbiology, 76, 173-179.

- Dinika, I., Verma, D. K., Balia, R., Utama, G. L., & Patel, A. R. (2020). Potential of cheese whey bioactive proteins and peptides in the development of antimicrobial edible film composite: A review of recent trends. Trends in Food Science & Technology, 103, 57-67.

- Ebrahimi, B., Mohammadi, R., Rouhi, M., Mortazavian, A. M., Shojaee-Aliabadi, S., & Koushki, M. R. (2018). Survival of probiotic bacteria in carboxymethyl cellulose-based edible film and assessment of quality parameters. Lwt, 87, 54-60.

- Ebrahimi, B., Mohammadi, R., Rouhi, M., Mortazavian, A. M., Shojaee-Aliabadi, S., & Koushki, M. R. (2018). Survival of probiotic bacteria in carboxymethyl cellulose-based edible film and assessment of quality parameters. Lwt, 87, 54-60.

- Jacobsen, N. M. Y., Caglayan, I., Caglayan, A., Bar-Shalom, D., & Müllertz, A. (2020). Achieving delayed release of freeze-dried probiotic strains by extrusion, spheronization and fluid bed coating-evaluated using a three-step in vitro model. International Journal of Pharmaceutics, 591, 120022.

- Javaherzadeh, R., Bafroee, A. T., & Kanjari, A. (2020). Preservation effect of Polylophium involucratum essential oil incorporated poly lactic acid/nanochitosan composite film on shelf life and sensory properties of chicken fillets at refrigeration temperature. Lwt, 118, 108783.

- Jost, V., & Stramm, C. (2016). Influence of plasticizers on the mechanical and barrier properties of cast biopolymer films. Journal of Applied Polymer Science, 133(2).

- Kakadellis, S., & Harris, Z. M. (2020). Don’t scrap the waste: The need for broader system boundaries in bioplastic food packaging life-cycle assessment – A critical review. Journal of Cleaner Production, 274, 122831.

- Kavitake, D., Kandasamy, S., Bruntha Devi, P., & Shetty, P. H. (2018). Recent developments on encapsulation of lactic acid bacteria as potential starter culture in fermented foods – A review. Food Bioscience, 21, 34–44.

- Kavitake, D., Kandasamy, S., Devi, P. B., & Shetty, P. H. (2018). Recent developments on encapsulation of lactic acid bacteria as potential starter culture in fermented foods–A review. Food Bioscience, 21, 34-44.

- Krishna, M., Nindo, C. I., & Min, S. C. (2012). Development of fish gelatin edible films using extrusion and compression molding. Journal of Food Engineering, 108(2), 337-344.

- Kumar, L., Ramakanth, D., Akhila, K., & Gaikwad, K. K. (2022). Edible films and coatings for food packaging applications: A review. Environmental Chemistry Letters, 20(1), 875-900.

- Matouskova, P., Hoova, J., Rysavka, P., & Marova, I. (2021). Stress effect of food matrices on viability of probiotic cells during model digestion. Microorganisms, 9(8), 1625.

- Misra, S., Pandey, P., Dalbhagat, C. G., & Mishra, H. N. (2022). Emerging technologies and coating materials for improved probiotication in food products: A review. Food and Bioprocess Technology, 15(5), 998-1039.

- Moeini, A., Germann, N., Malinconico, M., & Santagata, G. (2021). Formulation of secondary compounds as additives of biopolymer-based food packaging: A review. Trends in Food Science & Technology, 114, 342-354.

- Mozaffarzogh, M., Misaghi, A., Shahbazi, Y., & Kamkar, A. (2020). Evaluation of probiotic carboxymethyl cellulose-sodium caseinate films and their application in extending shelf life quality of fresh trout fillets. Lwt, 126, 109305.

- Odila Pereira, J., Soares, J., Costa, E., Silva, S., Gomes, A., & Pintado, M. (2019). Characterization of edible films based on alginate or whey protein incorporated with Bifidobacterium animalis subsp. lactis BB-12 and prebiotics. Coatings, 9(8), 493.

- Oduro, K. O. A. (2021). Edible coating. Postharvest Technology-Recent Advances, New Perspectives and Applications, 215-229.

- Olvera-Aguirre, G., Piñeiro-Vázquez, Á. T., Sanginés-García, J. R., Zárate, A. S., Ochoa-Flores, A. A., Segura-Campos, M. R., ... & Chay-Canul, A. J. (2023). Using plant-based compounds as preservatives for meat products: A review. Heliyon, 9(6).

- Paulo, A. F. S., Baú, T. R., Ida, E. I., & Shirai, M. A. (2021). Edible coatings and films with incorporation of prebiotics—a review. Food Research International, 148, 110629.

- Pavli, F., Kovaiou, I., Apostolakopoulou, G., Kapetanakou, A., Skandamis, P., Nychas, G. J. E., ... & Chorianopoulos, N. (2017). Alginate-based edible films delivering

probiotic bacteria to sliced ham pretreated with high pressure processing. International Journal of Molecular Sciences, 18(9), 1867.

- Peighambardoust, S. H., Yaghoubi, M., Hosseinpour, A., Alirezalu, K., Soltanzadeh, M., & Dadpour, M. (2022). Development and application of dual-sensors label in combination with active chitosan-based coating incorporating yarrow essential oil for freshness monitoring and shelf-life extension of chicken fillet. Foods, 11(21), 3533.

- Priyadarshi, R., & Rhim, J.-W. (2020). Chitosan-based biodegradable functional films for food packaging applications. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 62, 102346.

- Rashidinejad, A., Bahrami, A., Rehman, A., Rezaei, A., Babazadeh, A., Singh, H., & Jafari, S. M. (2022). Co-encapsulation of probiotics with prebiotics and their application in functional/synbiotic dairy products. Critical reviews in food science and nutrition, 62(9), 2470-2494.

- Reque, P. M., & Brandelli, A. (2021). Encapsulation of probiotics and nutraceuticals: Applications in functional food industry. Trends in Food Science & Technology, 114, 1-10.

- Rodrigues, F. J., Cedran, M. F., Bicas, J. L., & Sato, H. H. (2020). Encapsulated probiotic cells: Relevant techniques, natural sources as encapsulating materials and food applications–A narrative review. Food research international, 137, 109682.

- Ruedt, C., Gibis, M., & Weiss, J. (2023). Meat color and iridescence: Origin, analysis, and approaches to modulation. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 22(4), 3366-3394.

- Sáez-Orviz, S., Rendueles, M., & Diaz, M. (2023). Impact of adding prebiotics and probiotics on the characteristics of edible films and coatings-a review. Food Research International, 164, 112381.

- Salimiraad, S., Safaeian, S., Basti, A. A., Khanjari, A., & Nadoushan, R. M. (2022). Characterization of novel probiotic nanocomposite films based on nano chitosan/nano cellulose/gelatin for the preservation of fresh chicken fillets. Lwt, 162, 113429.

- Santhosh, R., Nath, D., & Sarkar, P. (2021). Novel food packaging materials including plant-based byproducts: A review. Trends in Food Science & Technology, 118, 471-489.

- Sbehat, M., Mauriello, G., & Altamimi, M. (2022). Microencapsulation of probiotics for food functionalization: An update on literature reviews. Microorganisms, 10(10), 1948.

- Silva, S. P., Teixeira, J. A., & Silva, C. C. (2023). Recent advances in the use of edible films and coatings with probiotic and bacteriocin-producing lactic acid bacteria. Food Bioscience, 56, 103196.

- Silva, S. P., Teixeira, J. A., & Silva, C. C. (2023). Recent advances in the use of edible films and coatings with probiotic and bacteriocin-producing lactic acid bacteria. Food Bioscience, 56, 103196.

- Soukoulis, C., Behboudi-Jobbehdar, S., Macnaughtan, W., Parmenter, C., & Fisk, I. D. (2017). Stability of Lactobacillus rhamnosus GG incorporated in edible films: Impact of anionic biopolymers and whey protein concentrate. Food hydrocolloids, 70, 345-355.

- Soukoulis, C., Singh, P., Macnaughtan, W., Parmenter, C., & Fisk, I. D. (2016). Compositional and physicochemical factors governing the viability of Lactobacillus rhamnosus GG embedded in starch-protein based edible films. Food hydrocolloids, 52, 876-887.

- Soukoulis, C., Singh, P., Macnaughtan, W., Parmenter, C., & Fisk, I. D. (2016). Compositional and physicochemical factors governing the viability of Lactobacillus rhamnosus GG embedded in starch-protein based edible films. Food hydrocolloids, 52, 876-887.

- Sun, J., Leng, X., Zang, J., & Zhao, G. (2024). Bio-based antibacterial food packaging films and coatings containing cinnamaldehyde: A review. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 64(1), 140-152.

- Velaga, S. P., Nikjoo, D., & Vuddanda, P. R. (2018). Experimental studies and modeling of the drying kinetics of multicomponent polymer films. Aaps Pharmscitech, 19(1), 425-435.

- Yaghoubi, M., Alirezalu, K., Hadi, F., Marcinkowska-Lesiak, M., Ismail-Fitry, M. R., Abd El-Aty, A. M., Oz, E., & Oz, F. (2025). Probiotic-incorporated active packaging solutions for meat and meat products: A review of benefits and recent applications. Trends in Food Science & Technology, 156, 104848.

- Zabihollahi, N., Alizadeh, A., Almasi, H., Hanifian, S., & Hamishekar, H. (2020). Development and characterization of carboxymethyl cellulose based probiotic nanocomposite film containing cellulose nanofiber and inulin for chicken fillet shelf life extension. International Journal of Biological Macromolecules, 160, 409-417.

- Zhang, Y., Zhang, Y., Jia, J., Peng, H., Qian, Q., Pan, Z., & Liu, D. (2023). Nitrite and nitrate in meat processing: Functions and alternatives. Current Research in Food Science, 6, 100470.

- Zhong, L., Blekkenhorst, L. C., Bondonno, N. P., Sim, M., Woodman, R. J., Croft, K. D., Lewis, J. R., Hodgson, J. M., & Bondonno, C. P. (2022). A food composition database for assessing nitrate intake from plant-based foods. Food Chemistry, 394, 133438.

- Zong, X., Zhang, X., Bi, K., Zhou, Y., Zhang, M., Qi, J., ... & Fu, M. (2021). Novel emulsion film based on gelatin/polydextrose/camellia oil incorporated with Lactobacillus pentosus: Physical, structural, and antibacterial properties. Food Hydrocolloids, 121, 107063.